

I hereby certify that this correspondence is being deposited with the United States Postal Service as First Class Mail on 3/26/04 in an envelope addressed to: Mail Stop Missing Parts, Commissioner for Patents, P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450.



3/26/04

Sig: Marjorie Scariati
Marjorie Scariati

IN THE UNITED STATES PATENT & TRADEMARK OFFICE

APPLICANT(S): Erich Eigenbrodt et al.

SERIAL NO.: 10/618,578

FILING DATE: 07/11/2003

TITLE: COMPOUNDS FOR THE MODULATION OF THE GLYKOLYSIS-ENZYME-AND/OR OF THE TRANSAMINASE COMPLEX

ART UNIT: Unassigned

EXAMINER: Unassigned

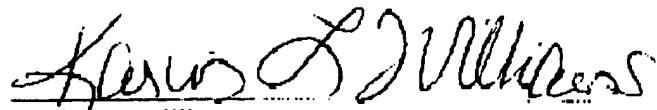
DOCKET: SCUE/US/0302

Mail Stop Missing Parts
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

LETTER REGARDING SUBMISSION OF PRIORITY DOCUMENT

The above referenced application claims priority to German Applications DE 102 44 080.8, filed September 6, 2002, DE 102 42 445.4, filed September 11, 2002, and DE 102 44 299.1, filed September 23, 2002. Applicant submits herewith one certified copy of each the above (3) priority applications.

Respectfully submitted,



Karin L. Williams Reg. No. 36,721
Mayer Fortkort & Williams, PC
251 North Avenue West, 2nd Floor
Westfield, NJ 07090

Date: 3/26/04

Tel: (908) 518-7700
Fax: (908) 518-7795

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen:

102 44 080.8

Anmeldetag:

06. September 2002

Anmelder/Inhaber:

ScheBo Biotech AG, Giessen/DE

Bezeichnung:

Verbindungen zur Modulation des Glykolyse-Enzym-
und/oder Transaminase-Komplexes

IPC:

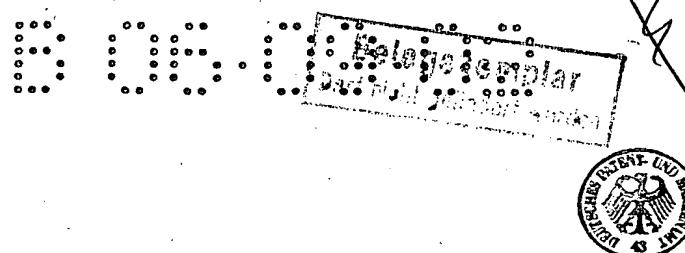
C 07 C 239/22

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 14. Juli 2003
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

A handwritten signature in black ink, appearing to read "H. Agurks", is placed here.

Agurks



20

Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft Verbindungen zur Modulation des Glykolyse Enzym-Komplexes und des Transaminase-
5 Komplexes, pharmazeutische Zusammensetzungen enthal-
tend solche Verbindungen sowie Verwendungen von sol-
chen Verbindungen zur Herstellung von pharmazeutischen
Zusammensetzungen zur Behandlung verschiedener
Krankheiten.

10

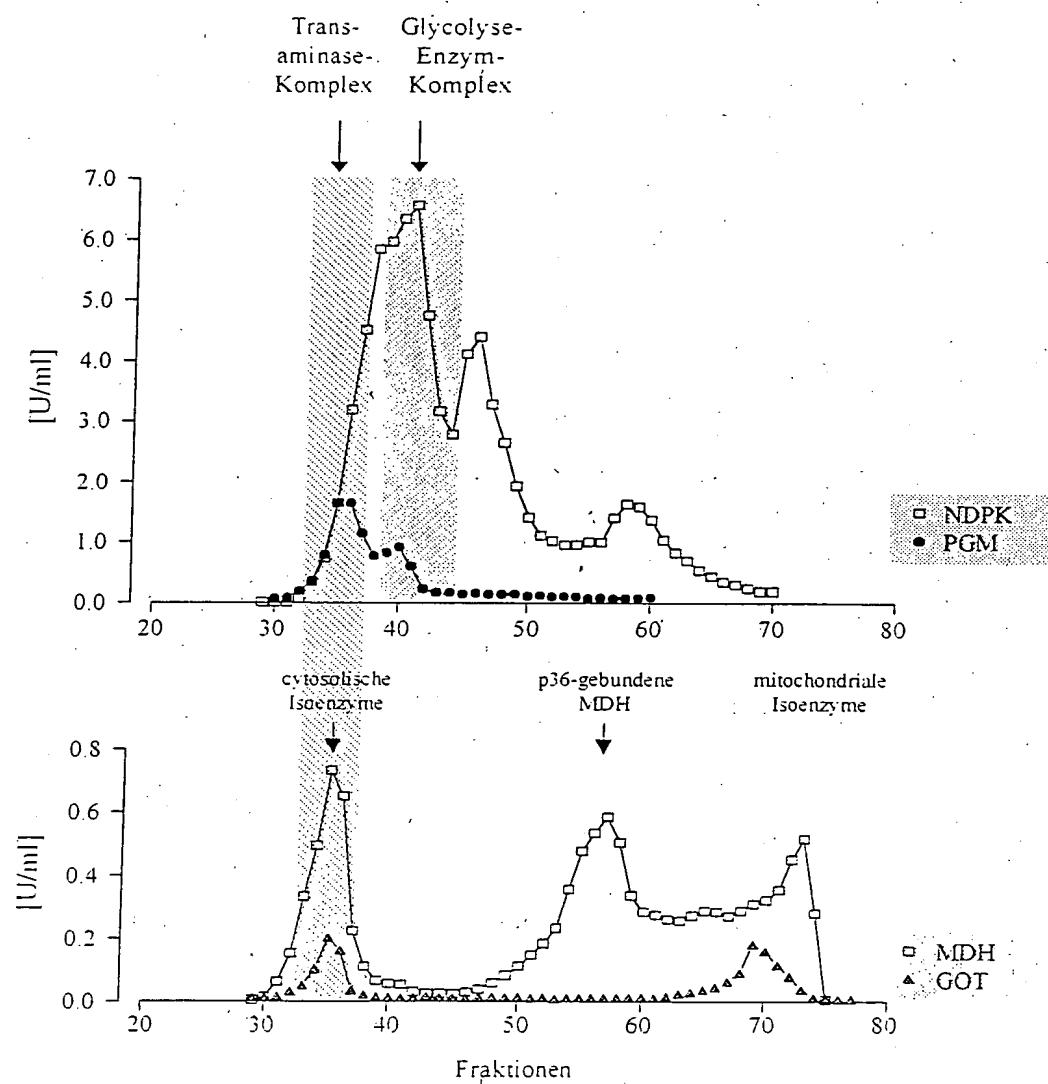
15

20

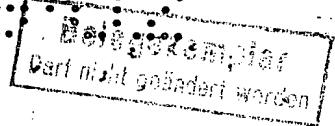
25

30

FIGUR 1



806.09.00



1

Verbindungen zur Modulation des Glykolyse-Enzym- und/oder Transaminase-Komplexes.

5 Gebiet der Erfindung.

Die Erfindung betrifft Verbindungen zur Modulation des Glykolyse-Enzym- und/oder Transaminase-Komplexes und folglich insbesondere Wachstumshemmung von Zellen und/oder 10 Bakterien, pharmazeutische Zusammensetzungen enthaltend solche Verbindungen sowie Verwendungen von solchen Verbindungen zur Herstellung von pharmazeutischen Zusammensetzungen zur Behandlung verschiedener Krankheiten.

15

Hintergrund der Erfindung.

Krebs ist heutzutage eine der häufigsten Todesursachen und 20 die Zahl der Krebsfälle in den industrialisierten Ländern nimmt ständig zu. Das beruht vor allem darauf, daß maligne Tumoren eine Erkrankung des höheren Lebensalters sind und dank der erfolgreichen Bekämpfung von Infektionskrankheiten jetzt mehr Menschen dieses Alter erreichen. Trotz 25 aller Fortschritte auf diagnostischem und therapeutischem Gebiet liegen die Heilungsaussichten für die am häufigsten auftretenden inneren Krebsformen selten über 20%. Eine Krebgeschwulst kann derzeit vernichtet oder in ihrem Wachstum gehemmt werden. Eine Rückbildung einer Tumorzelle 30 in eine normale Zelle lässt sich noch nicht erreichen. Die wichtigsten therapeutischen Maßnahmen, die Operation und die Bestrahlung, entfernen Krebszellen aus dem Organismus. Auch die derzeit gebräuchlichen Chemotherapeutika des

Krebses, die Zytostatika, führen nur zu einer Zerstörung oder Schädigung von Tumorzellen. Die Wirkung ist in den meisten Fällen so wenig spezifisch, daß gleichzeitig schwere Schäden an gesunden Zellen auftreten.

5

Im allgemeinen weisen Tumorzellen einen von gesunden Zellen abweichenden Metabolismus, insbesondere Glykolyse, auf. So ist eine Änderung des in die Glykolyse involvierten Isoenzym Systems und eine Änderung in dem 10 Transport von NADH für Tumorzellen typisch. U.a. ist die Aktivität der Enzyme der Glykolyse erhöht. Dies erlaubt auch hohe Umsätze unter den bei Tumorzellen typischen aeroben Bedingungen. Im Detail wird hierzu auf E. Eigenbrodt et al., Biochemical and Molecular Aspects of 15 Selected Cancers, Vol. 2, S. 311 ff., 1994, verwiesen.

Auch verschiedene andere, folgend genannte Krankheiten gehen entweder mit einer (übermäßigen) Verstoffwechselung über den Glykolyse-Enzymkomplex einher und lassen sich 20 durch dessen Reduktion bzw. Hemmung behandeln.

Stand der Technik.

25 Aus der Literaturstelle E. Eigenbrodt et al., Biochemical and Molecular Aspects of Selected Cancers, Vol. 2, S. 311 ff., 1994, ist es bekannt, zur Hemmung der Glykolyse Glucoseanaloge einzusetzen. Andere hieraus bekannte Ansätze sind der Einsatz von Inhibitoren glykolytischer 30 Isoenzyme; beispielsweise durch geeignete Komplexbildung oder Inhibierung von Komplexbildungen. Im Ergebnis werden Tumorzellen gleichsam ausgehungert. Problematisch bei den vorstehenden Verbindungen ist, daß viele davon

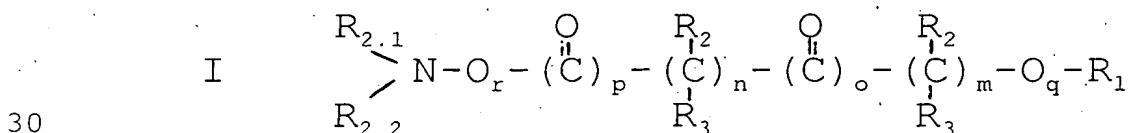
geneotoxisch sind und/oder nicht hinreichend spezifisch für Tumorzellen.

5 Technisches Problem der Erfindung.

Der vorliegenden Erfindung liegt das technische Problem zu Grunde, Wirkstoffe anzugeben, welche in der Lage sind, den Glykolyse-Enzym- und Transaminase-Komplex zu modulieren 10 bzw. zu hemmen, insbesondere die Proliferation von Krebszellen und somit das Wachstum neoplastischer Tumore zu hemmen sowie überschießende Abwehrreaktionen des Körpers, wie z.B. septischer Schock, Autoimmunerkrankungen, Transplantatabstoßungen sowie akute und chronische 15 Entzündungsreaktionen zu inhibieren, und zwar bei gleichzeitig lediglich geringfügiger bis keiner Zytotoxizität gegenüber Zellen mit intaktem Glykolyse-Enzym-Komplex oder anderen Komplex-Strukturen. Zusätzlich soll das Wachstum von unizellulären Organismen 20 gehemmt werden.

Grundzüge der Erfindung.

25 Zur Lösung dieses technischen Problems lehrt die Erfindung eine Verbindung gemäß Formel I



wobei $R_1 = -CN, -COO^+, -COS^+, -COOH, -COSH, -COOR_{1.1},$
-COSR_{1.1}, wobei $R_{1.1} = -H, C_{1-10}$ Alkyl, C_{1-10} Aralkyl bzw.
Aryl, wobei $R_2 = -H, -OR_{1.1}, -Hal$ (-F, -Cl, -Br, -J),
-NR_{2.1}R_{2.2}, -Am, -O-Am, -S-Am, wobei $R_3 = -H, -OR_{1.1}, -Hal$
5 (-F, -Cl, -Br, -J), -NR_{2.1}R_{2.2}, -Am, -O-Am, -S-Am, wobei
 $R_{2.1} = -H, C_{1-10}$ Alkyl, C_{1-10} Aralkyl bzw. Aryl, wobei
 $R_{2.2} = -H, C_{1-10}$ Alkyl, C_{1-10} Aralkyl bzw. Aryl, wobei
 $R_{2.1}$ und $R_{2.2}$ gleich oder verschieden sein können, wobei n
und m gleich oder verschieden und 0 bis 10 sein können,
10 wobei o und p gleich oder verschieden und 0 bis 3 sein
können, wobei $o > 0$ ist, wenn n und $m = 0$ sind, wobei R_2
und R_3 für C_n und C_m gleich oder verschieden sein können,
wobei R_2 für jedes $C_x = 1 \dots n$ gleich oder verschieden sein
können, wobei R_3 für jedes $C_y = 1 \dots m$ gleich oder verschieden
15 sein kann, wobei -Am einen Aminosäurenrest darstellt,
wobei q und $r = 0$ oder 1 sowie gleich oder verschieden
sind, wobei $-O_r-$ und/oder $-O_q-$ auch durch $-S_r-$ bzw. $-S_q-$
ersetzt sein kann, wobei -NR_{2.1}R_{2.2} ersetzt sein kann
durch lineares oder verzweigtes $C_{1-C_{20}}$ Alkyl, oder ein
20 physiologisch verträgliches Salz einer solchen Verbindung.

Ein Aminosäurenrest ist in einer Aminosäure wie folgt
definiert: $NH_2-CHAm-COOH$. In Frage kommen insbesondere Ami-
nosäurenreste der proteinogenen Aminosäuren, speziell der
25 essentiellen Aminosäuren. Soweit eine erfindungsgemäße
Verbindung optische Aktivität aufweist (beispielsweise
gemäß Ausführungsformen des Anspruches 3), sind die ver-
schiedenen Varianten, wie L- und D-Form mit umfaßt. Ent-
sprechendes gilt im Falle (mehrerer) chiraler Zentren.

30

Besonders geeignet sind erfindungsgemäße Verbindungen,
wobei R_2 zumindest einfach als -Am vorliegt, wobei -Am
vorzugsweise einen Aminosäurenrest einer essentiellen

Aminosäure darstellt, wobei insbesondere $q = 0$ und $r = 1$ oder $q = 1$ und $r = 0$ oder $q = 1$ und $r = 1$, $m = 1$, $R3 = -H$, $n = o = p = 0$, $R2.1 = R2.2 = -H$ ist.

5 Desweiteren sind verschiedene konkrete Gruppen bevorzugt, nämlich: i) wobei $n = o = p = 0$ ist, wobei $m = 0$ bis 4 ist, wobei $R2 = R3 = -H$ ist, wobei $R2.1 = R2.2 = -H$ ist, wobei $q = 0$ und $r = 1$ ist, ii) wobei $m = p = 0$ ist, wobei $o = 1$ ist, wobei $n = 0$ bis 4 ist, wobei $R2 = H$ ist, wobei 10 $R3 = -H$ oder -Hal im Falle von $Cx=1$ ist, wobei $R3 = -H$ ist für alle $Cx=n>1$, wobei $R2.1 = R2.2 = -H$ ist, wobei $q = 0$ und $r = 1$ ist, iii) wobei $m = 1$ bis 4 ist, wobei $n = o = p = 0$ ist, wobei $R2 = H$ ist, wobei $R3 = -H$ oder -Hal im Falle von $Cy=1$ ist, wobei $R3 = -H$ ist für alle $Cy=m>1$, 15 wobei $R2.1 = R2.2 = -H$ ist, wobei $q = 0$ und $r = 1$ ist, iv), wobei $o = p = 1$ ist, wobei $m = 0$ ist, wobei $n = 0$ bis 4 ist, wobei $R2 = R3 = -H$ ist, wobei $R2.1 = R2.2 = -H$ ist, wobei $q = 0$ und $r = 1$ ist, v), wobei $n = p = 0$ ist, wobei $o = 1$ ist, wobei $m = 0$ bis 4 ist, wobei $R2 = R3 = -H$ ist, 20 wobei $R2.1 = R2.2 = -H$ ist, wobei $q = 0$ und $r = 1$ ist, oder vi) wobei $m = p = 0$ ist, wobei $o = 1$ ist, wobei $n = 1$ bis 4 ist, wobei $R2 = R3 = -H$ ist, wobei $R2.1 = R2.2 = -H$ ist, wobei $q = 0$ und $r = 1$ ist.

25 Generell kann ein $R2$ durch $-Am$ ersetzt sein.

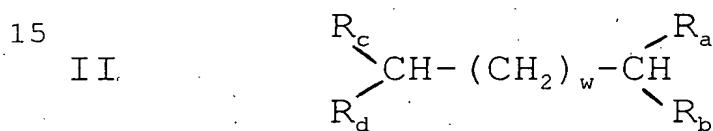
Beispiele für Verbindungen, in denen $-NR2.1R2.2$ ersetzt ist durch $-C1-C20$ Alkyl sind: $CH_3-O-(CH_2)_m-R1$, $CH_3-O-CO-(CH_2)_m-R1$, $CR5R6R7-O-(CH_2)_m-R1$, 30 $CR5R6R7-O-CO-(CH_2)_m-R1$, wobei $R5$, $R6$ und $R7$ $-C1-C10$ Alkyl, linear oder verzweigt, nicht substituiert oder substituiert, sein kann. (CH_2) kann selbstverständlich auch $(CR2R3)$ sein. $-O-$ bzw. $=O$ kann durch $-S-$ bzw. $=S$ ersetzt

sein. R₁ ist wie vorstehend angegeben. CR₅R₆R₇ kann insbesondere t-Butyl sein.

Beispiele für erfindungsgemäße Verbindungen sind:

5 $\text{NH}_2\text{-O-}(\text{CH}_2)_m\text{-R1}$, $\text{NH}_2\text{-O-}(\text{CH}_2)_n\text{-CO-R1}$, $\text{NH}_2\text{-O-CHHal-}(\text{CO})_o\text{-R1}$,
 $\text{NH}_2\text{-O-CHHal-CH}_2\text{-}(\text{CO})_o\text{-R1}$, $\text{NH}_2\text{-O-CHHal-}(\text{CH}_2)_2\text{-}(\text{CO})_o\text{-R1}$,
 $\text{NH}_2\text{-O-CHHal-}(\text{CH}_2)_3\text{-}(\text{CO})_o\text{-R1}$, $\text{NH}_2\text{-O-CHHal-}(\text{CH}_2)_4\text{-}(\text{CO})_o\text{-R1}$,
 $\text{NH}_2\text{-O-CO-}(\text{CH}_2)_n\text{-CO-R1}$, $\text{NH}_2\text{-O-CO-}(\text{CH}_2)_n\text{-R1}$, $\text{NH}_2\text{-O-}(\text{CH}_2)_n\text{-CO-R1}$,
 $\text{NH}_2\text{-O-CO-}(\text{CH}_2)_n\text{-CHNH}_2\text{-R1}$, $\text{NH}_2\text{-O-}(\text{CH}_2)_n\text{-CHNH}_2\text{-R1}$, mit R1 = $-\text{CN}$
10 oder $-\text{COOH}$, m bzw. n = 0-4, o = 0 oder 1, wobei $-\text{O-}$ durch
S ersetzt sein kann

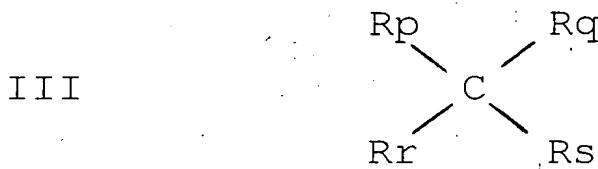
Eine andere erfindungsgemäße Formel ist Formel II



wobei $R_a = -CN$, $R_b = -H$, $=O$, $-OH$, $-NH_2$, $R_c = -NH_2$, $-O-NH_2$,
20 $-O-(C1-10)Alkyl$, $R_d = -H$, $-Hal$, $=O$, $-OH$, wobei im Falle von
 $=O$ das H eines CH entfällt, wobei $w = 0-10$, z.B. 1 bis 4.

Eine weitere erfindungsgemäße Formel ist Formel III

25



30

wobei $R_p = -R_1, -O-R_1, -O-(CR_2R_3)_x-R_1, -(CR_2R_3)_x-O-R_1, R_q = -NR_2.1R_2.2, -O-NR_2.1R_2.2, -O-(CR_2R_3)_x-NR_2.1R_2.2, -(CR_2R_3)_x-O-NR_2.1R_2.2, R_r = -Am, -O-Am, -O-(CR_2R_3)_x-Am,$

- (CR₂R₃)_x-O-Am, R_s = -H, -C₁-C₁₀ Alkyl, Aryl oder Aralkyl, -C₁-C₁₀ Hydroxyalkyl, Aryl oder Aralkyl; oder ein Ether eines solchen Hydroxyrestes, wobei -O- ersetzt sein kann durch -S- und x = 1 bis 10, insbesondere 1 bis 4. R₁ ist 5 wie vorstehend angegeben, insbesondere -CN oder -COOH.

Beispiele solcher Verbindungen sind: NH₂-O-CHAm-R₁, NH₂-CHAm-O-R₁, NH₂-O-CHAm-O-R₁, NH₂-CHR₁-O-Am, Am-O-CHNH₂-O-R₁, NH₂-O-(Am-O-CH-O-R₁). Auf einer Seite eines -O- oder mehrerer -O- oder auf beiden Seiten eines 10 -O- oder mehrerer -O- kann unmittelbar -(CH₂)_x- zwischengeschaltet sein.

Die Erfindung beruht auf der Erkenntnis, daß neben den klassischen Stoffwechselkrankungen, wie Diabetes mellitus, Adipositas auch andere Erkrankungen, wie Krebs, Autoimmunerkrankungen und Rheuma durch Stoffwechselentgleisungen verursacht werden. Dies erklärt den starken Einfluss der Ernährung auf diese Erkrankungen. Ein direkter messbarer biochemischer Parameter für diese Stoffwechselentgleisungen ist der Anstieg der Pyruvatkinase Typ M2 (M2-PK), die im Blut von Patienten aller vorstehend und folgend genannter Erkrankungen ansteigt. In Abhängigkeit von der jeweiligen Erkrankung kommt die im Blut der Patienten nachweisbare M2-PK aus unterschiedlichen Zellen: 25 bei Krebs aus Tumorzellen, bei Sepsis aus Immunzellen, bei Rheuma aus Immun- und/oder Sinovialzellen. In gesunden Zellen findet sich die tetramere Form der M2-PK in einem hoch geordneten cytosolischen Komplex, dem Glykolyse-Enzym-Komplex. Durch die Überaktivierung von Oncoproteinen 30 kommt es zur Auswanderung der M2-PK aus dem Komplex und zu den typischen Veränderungen im Tumor-Stoffwechsel. Gleichzeitig verlässt die Phosphoglyceromutase (PGM) den Komplex und wandert in einen anderen Enzym-Komplex, in dem

cytosolische Transaminasen assoziiert sind (siehe Beispiel 2). Dieser Komplex wird daher als Transaminase-Komplex bezeichnet. Das Substrat der PGM, Glycerat-3-P, ist die Vorstufe für die Synthese der Aminosäuren Serin und Glycin. Beide Aminosäuren sind essentiell für die DNA- und Phospholipid-Synthese. Durch das Einwandern der PGM in den Transaminase-Komplex wird die Synthese von Serin aus Glutamat und damit die Glutaminolyse aktiviert. Die gleichen Veränderungen finden in Immunzellen statt, wenn das Immunsystem entgleist, wie beispielsweise bei Rheuma, Sepsis oder Polytrauma. Die Integration des Stoffwechsels von verschiedenen Zellen in multizellulären Organismen erfolgt durch Organ-spezifische Assoziation der Enzyme im Cytosol: im Muskel z.B. durch Assoziation mit Kontraktionsproteinen. Aus diesem Grund sind die verschiedenen Organe mit jeweils spezifischen Isoenzymen ausgestattet. Die Auflösung dieser Ordnung führt zwangsläufig zu Erkrankungen. Unizelluläre Organismen, wie Bakterien oder Hefen, die auf ausreichendes Nahrungsangebot mit ungezügelter Prolifération reagieren, besitzen keine komplexe Organisation des Cytosols. Folglich hemmen Substanzen, die den entgleisten Stoffwechsel von multizellulären Organismen hemmen, auch die Proliferation von solchen unizellulären Organismen.

25

Die Erfindung lehrt weiterhin die Verwendung einer erfindungsgemäßen Verbindung zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung einer oder mehrerer Erkrankungen aus der Gruppe bestehend aus "Krebs, chronische Entzündungen, Asthma, Arthritis, Osteoarthritis, chronische Polyarthritis, rheumatische Arthritis, Inflammatory bowel disease, degenerative Gelenkserkrankungen, Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises mit

Knorpelabbau, Sepsis, Autoimmunerkrankungen, Typ I Diabetes, Hashimoto-Thyreoiditis, Autoimmunthrombozytopenie, Multiple Sklerose, Myasthenia gravis, chronisch entzündliche Darmerkrankungen, Morbus Crohn, Uveitis, Psoriasis, 5 Kollagenosen, Goodpasture-Syndrom, Erkrankungen mit gestörter Leukozyten-Adhäsion, Cachexie, Erkrankungen durch erhöhte TNFalpha Konzentration, Diabetes, Adipositas, bakterielle Infektionen, insbesondere mit resistenten Bakterien". Der Begriff der Behandlung umfaßt auch die 10 Prophylaxe.

Die Erfindung lehrt des weiteren eine pharmazeutische Zusammensetzung, wobei eine erfindungsgemäße Verbindung mit einem oder mehreren physiologisch verträglichen 15 Hilfstoffen und/oder Trägerstoffen gemischt und galenisch zur lokalen oder systemischen Gabe, insbesondere oral, parenteral, zur Infusion bzw. Infundierung in ein Zielorgan, zur Injektion (z.B. i.v., i.m., intrakapsulär oder intralumbal), zur Applikation in Zahntaschen (Raum 20 zwischen Zahnwurzel und Zahnfleisch) hergerichtet ist.

Die Erfindung lehrt schließlich die Verwendung einer erfindungsgemäßen Verbindung zur in vitro Hemmung des Glykolyse-Enzymkomplexes, insbesondere von Pyruvatkinase, 25 Asparaginase, Serindehydratasen, Transaminasen, Desaminasen, und/oder Glutaminasen. Blockiert werden insbesondere die Transaminierung, die oxidative Desaminierung, die hydrolytische Desaminierung, die eliminierende Desaminierung und die reduktive Desaminierung.

30

Es versteht sich, daß ggf. für Verbindungen nach Formel I verschiedenen Stereoisomere existieren können, welche alle Gegenstand der Erfindung sind. Der Begriff

Alkyl umfaßt lineare und verzweigte Alkygruppen sowie Cycloalkyl, ggf. auch Cycloalkylgruppen mit linearen oder verzweigten Alkysubstituenten. Der Begriff Aryl umfaßt auch Aralkylgruppen, wobei Alkylsubstituenten 5 Alkyl oder Cycloalkyl sein können.

Überraschenderweise wurde gefunden, daß erfindungsgemäße Verbindungen in der Lage sind, die vorstehend genannten Mitglieder der Glykolyse-Enzymkomplexes kom-10 petitiv zu hemmen. So kann die Proliferation von Krebszellen in therapeutisch relevanten Konzentrationen gehemmt werden. Dabei ist in dem in Frage kommenden Dosisbereich keine zytotoxische Wirkung zu erwarten. Aufgrund ihrer pharmakologischen 15 Eigenschaften eignen sich die erfindungsgemäßen Verbindungen auch hervorragend zur Behandlung und Prophylaxe der weiteren, vorstehend aufgezählten Erkrankungen. Im Zusammenhang mit den Indikationen zur Entzündungshemmung bzw. antirheumatische Wirkung ist 20 von besonderer Relevanz, daß es sich bei den erfindungsgemäßen Substanzen um nicht-steroidale Substanzen handelt.

Die Hemmung des Glykolyse-Enzym- und des Transaminase-25 Komplexes umfaßt insbesondere die Hemmung der Verstoffwechselung und des Energiegewinns aus Serin, Glutamin, Ornithin, Prolin und Arginin oder aus anderen Aminosäuren dieser oder anderer Familien, aber auch die Synthese solcher zur Energieerzeugung genutz-30 ten Aminosäuren; wichtigen Energiequellen beispiel-sweise in Tumorzellen, aber auch in Bakterien und Hefen. Die Zellen bzw. Bakterien oder Hefen werden gleichsam ausgehungert. Im Einzelnen blockieren

erfindungsgemäße Substanzen beispielsweise die folgenden Reaktionen: i) Threonin zu Glycin, ii) Threonin zu α -Amino- β -ketobutyrat, iii) α -Amino- β -ketobutyrat zu Glycin, iv) Serin-Pyridoxalphosphat (PLP) Schiff'sche 5 Base zu Aminoacrylat, insbesondere die Folsäure-abhängige Serinhydroxymethyltransferase, v) Aminoacrylat zu Pyruvat (durch Verschiebung des Gleichgewichts der natürlichen Hydrolyse der PLP Schiff'schen Base hin zur Schiff'schen Base), vi) Transaminierung mit- 10 tels PLP zur Synthese einer Aminosäure aus einer Oxosäure, insbesondere der verzweigtkettigen Transaminase, die α -Ketoglutarat, Oxalacetat, 3-Hydroxypyruvat und Glyoxalat Transaminase, die Glutamat Dehydrogenase. Insbesondere wird mit erfindungs- 15 gemäßen Substanzen die Bildung von Pyruvat aus Aminosäuren gehemmt. Wichtig ist die Freisetzung von NH₂-OH oder CH₃-OH (-H an C oder N ggf. ersetzt durch andere Reste, beispielsweise Alkyl) durch Glutaminase, Arginase, Asparaginase oder Serinhydroxymethyltrans- 20 ferase. Dies führt zu einer erhöhten Spezifität, da ein Charakteristikum von Tumorzellen eine hohe Glutaminase und Serinhydroxymethyltransferase Aktivität ist. NH₂-OH (Hydroxylamin) beispielsweise kann von den hohen Pyruvakinase Aktivitäten anstelle des -OH des 25 Phosphates (z.B. des ADP) phosphoryliert werden. Dies führt zur Entkoppelung der Pyruvakinase-Reaktion in Tumorzellen.

Im Rahmen der Erfindung sind diverse weitere Aus- 30 führungsformen möglich. So kann eine erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung mehrere verschiedene, unter die vorstehenden Definitionen fallende Verbindungen enthalten. Weiterhin kann eine

erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung zusätzlich einen von der Verbindung der Formel I verschiedenen Wirkstoff enthalten. Dann handelt es sich um ein Kombinationspräparat. Dabei können die verschiedenen eingesetzten Wirkstoffe in einer einzigen Darreichungsform präpariert sein, i.e. die Wirkstoffe sind in der Darreichungsform gemischt. Es ist aber auch möglich, die verschiedenen Wirkstoffe in räumlich getrennten Darreichungsformen gleicher oder verschiedener Art herzurichten.

Als Gegenionen für ionische Verbindungen nach Formel I kommen Na^+ , K^+ , Li^+ , Cyclohexylammonium, oder basische Aminosäuren (z.B Lysin, Argini, Ornithin, Glutamin) in Frage.

Die mit erfindungsgemäßen Verbindungen hergestellten Arzneimittel können oral, intramuskulär, periartikulär, intraartikulär, intravenös, intraperitoneal, subkutan oder rektal verabreicht werden.

Die Erfindung betrifft auch Verfahren zur Herstellung von Arzneimitteln, die dadurch gekennzeichnet sind, dass man mindestens eine Verbindung der Formel I mit einem pharmazeutisch geeigneten und physiologisch verträglichen Träger und gegebenenfalls weiteren geeigneten Wirk-, Zusatz- oder Hilfsstoffen in eine geeignete Darreichungsform bringt.

Geeignete feste oder flüssige galenische Zubereitungsformen sind beispielsweise Granulat, Pulver, Dragees, Tabletten, (Mikro) Kapseln, Suppositorien, Sirupe, Säfte, Suspensionen, Emulsionen, Tropfen oder

injizierbare Lösungen sowie Präparate mit protrahierter Wirkstoff-Freigabe, bei deren Herstellung übliche Hilfsmittel wie Trägerstoffe, Spreng-, Binde-, Überzugs-, Quellungs-, Gleit- oder Schmiermittel, Geschmacksstoffe, Süßungsmittel und Lösungsvermittler, Verwendung finden.

Als Hilfsstoffe seien Magnesiumcarbonat, Titandioxid, Laktose, Mannit und andere Zucker, Talkum, Milcheiweiß, Gelatine, Stärke, Cellulose und ihre Derivate, tierische und pflanzliche Öle wie Lebertran, Sonnenblumen-, Erdnuß- oder Sesamöl, Polyethylenglykole und Lösungsmittel, wie etwa steriles Wasser und ein- oder mehrwertige Alkohole, z.B. Glycerin, genannt.

15 Vorzugsweise werden die Arzneimittel in Dosierungseinheiten hergestellt und verabreicht, wobei jede Einheit als aktiven Bestandteil eine definierte Dosis der erfindungsgemäßen Verbindung gemäß Formel I enthält. Bei festen Dosierungseinheiten wie Tabletten, Kapseln, Dragees 20 oder Suppositorien kann diese Dosis 1 bis 1000 mg, bevorzugt 50 bis 300 mg, und bei Injektionslösungen in Ampullenform 0,3 bis 300 mg, vorzugsweise 10 bis 100 mg, betragen.

25 Für die Behandlung eines erwachsenen, 50 bis 100 kg schweren, beispielsweise 70 kg schweren, Patienten sind beispielsweise Tagesdosen von 20 bis 1000 mg Wirkstoff, vorzugsweise 100 bis 500 mg, indiziert. Unter Umständen können jedoch auch höhere oder niedrigere Tagesdosen 30 angebracht sein. Die Verabreichung der Tagesdosis kann sowohl durch Einmalgabe in Form einer einzelnen Dosierungseinheit oder aber mehrerer kleinerer

Dosierungseinheiten als auch durch Mehrfachgabe unterteilter Dosen in bestimmten Intervallen erfolgen.

Im Folgenden wird die Erfindung anhand von lediglich 5 Ausführungsformen darstellenden Beispielen näher erläutert.

Beispiel 1: Quantifizierung der Wirksamkeit einer erfindungsgemäßen Verbindung

10

Einsetzbare Novikoff-Hepatom-Zellen sind von der Tumorbank des Deutschen Krebsforschungszentrums, Heidelberg, (Cancer Research 1951, 17, 1010) erhältlich. Es werden je 100.000 Zellen pro 25cm²-Kultivierungsflasche ausgesät. Eine 15 erfindungsgemäße Substanz wird, gelöst in einem für den Einsatz in Zellkulturen geeigneten Lösungsmittel wie z.B. Wasser, verd. Ethanol, Dimethylsulfoxid o.ä., in steigender Konzentration dem Kulturmedium zugesetzt, z.B. im Konzentrationsbereich von 80µM - 5000µM oder von 100µM 20 - 300 µM). Nach vier Kultivierungstagen wird die Zellzahl pro Flasche ausgezählt. Im Vergleich zu der Kontrollprobe (ohne Zugabe einer erfindungsgemäßen Verbindung oder mit ersatzweiser Zugabe einer Referenzverbindung) erkennt man das Maß und die Dosisabhängigkeit einer 25 Proliferationshemmung der eingesetzten Verbindung.

Beispiel 2: Auswanderung der PGM

In der Figur 1 ist eine isoelektrische Fokussierung eines 30 Tumorzellextraktes (MCF-7 Zellen) gezeigt. Man erkennt, daß PGM den Glykolyse-Enzym-Komplex verläßt und in einen mit den cytosolischen Transaminasen assoziierten Komplex, dem Transaminase-Komplex, wandert. Der Transaminase-

8 06.09.00

26

15

Komplex ist wie folgt zusammengesetzt: cytosolische
Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT), c-Malat-Dehydro-
genase (MDH), Phosphoglyceromutase (PGM). Nicht gezeigt
sind: c-Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT), c-Glutamat-
5 Hydroxypyruvat-Transaminase, c-Alanin-Hydroxypyruvat-
Transaminase, c-Serin-Hydroxymethyl-Transferase und
c-Glutamat-Dehydrogenase (GIDH). Die PGM und die
Nukleotid-Diphosphatkinase (NDPK) können sowohl im
Transaminase- als auch im Glycolyse-Enzym-Komplex
10 assoziiert sein.

15

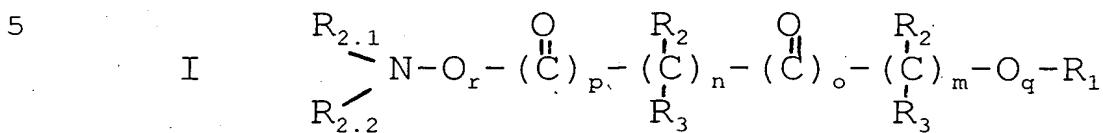
20

25

30

Patentansprüche:

1. Verbindung gemäß Formel I



10 wobei $R_1 = -CN, -COO+, -COS+, -COOH, -COSH, -COOR_{1.1}, -COSR_{1.1}$,

wobei $R_{1.1} = -H, C_{1-10}$ Alkyl, C_{1-10} Aralkyl bzw. Aryl,

wobei $R_2 = -H, -OR_{1.1}, -Hal (-F, -Cl, -Br, -J),$

$-NR_2.1R_2.2, -Am, -O-Am, -S-Am,$

15 wobei $R_3 = -H, -OR_{1.1}, -Hal (-F, -Cl, -Br, -J),$
 $-NR_2.1R_2.2, -Am, -O-Am, -S-Am,$

wobei $R_{2.1} = -H, C_{1-10}$ Alkyl, C_{1-10} Aralkyl bzw. Aryl,

wobei $R_{2.2} = -H, C_{1-10}$ Alkyl, C_{1-10} Aralkyl bzw. Aryl,

wobei $R_{2.1}$ und $R_{2.2}$ gleich oder verschieden sein können,

20 wobei n und m gleich oder verschieden und 0 bis 10 sein können,

wobei o und p gleich oder verschieden und 0 bis 3 sein können,

wobei $o > 0$ ist, wenn n und $m = 0$ sind,

25 wobei R_2 und R_3 für C_n und/oder C_m gleich oder verschieden sein können,

wobei R_2 für jedes $C_x=1 \dots n$ gleich oder verschieden sein kann,

30 wobei R_3 für jedes $C_y=1 \dots m$ gleich oder verschieden sein kann,

wobei $-Am$ einen Aminosäurenrest darstellt,

wobei q und $r = 0$ oder 1 sowie gleich oder verschieden sind,

wobei $-O_r-$ und/oder $-O_q-$ auch durch $-S_r-$ bzw. $-S_q-$ ersetzt sein kann,
wobei $-NR_2.1R_2.2$ ersetzt sein kann durch lineares oder verzweigtes $-C_1-C_{20}$ Alkyl, Aralkyl oder Aryl,
5 oder ein physiologisch verträgliches Salz einer solchen Verbindung.

2. Verbindung nach Anspruch 1, wobei $R_1 = -CN$ ist.

10

3. Verbindung nach Anspruch 1 oder 2, wobei R_2 zumindest einfach als $-Am$ vorliegt, wobei $-Am$ vorzugsweise einen Aminosäurenrest einer essentiellen Aminosäure darstellt,
15 wobei insbesondere $q = 0$ und $r = 1$ oder $q = 1$ und $r = 0$ oder $q = 1$ und $r = 1$, $m = 1$, $R_3 = -H$, $n = o = p = 0$, $R_{2.1} = R_{2.2} = -H$ ist.

20 4. Verbindung nach Anspruch 1 oder 2, wobei $n = o = p = 0$ ist, wobei $m = 0$ bis 4 ist, wobei $R_2 = R_3 = -H$ ist, wobei $R_{2.1} = R_{2.2} = -H$ ist, wobei $q = 0$ und $r = 1$ ist.

25 5. Verbindung nach Anspruch 1 oder 2, wobei $m = p = 0$ ist, wobei $o = 1$ ist, wobei $n = 0$ bis 4 ist, wobei $R_2 = H$ ist, wobei $R_3 = -H$ oder $-Hal$ im Falle von $Cx=1$ ist, wobei $R_3 = -H$ ist für alle $Cx=n>1$, wobei $R_{2.1} = R_{2.2} = -H$ ist, wobei $q = 0$ und $r = 1$ ist.

30

6. Verbindung nach Anspruch 1 oder 2, wobei $m = 1$ bis 4 ist, wobei $n = o = p = 0$ ist, wobei $R_2 = H$ ist, wobei

R3 = -H oder -Hal im Falle von Cy=1 ist, wobei R3 = -H ist für alle Cy=m>1, wobei R2.1 = R2.2 = -H ist, wobei q = 0 und r = 1 ist.

5

7. Verbindung nach Anspruch 1 oder 2, wobei o = p = 1 ist, wobei m = 0 ist, wobei n = 0 bis 4 ist, wobei R2 = R3 = -H ist, wobei R2.1 = R2.2 = -H ist, wobei q = 0 und r = 1 ist.

10

8. Verbindung nach Anspruch 1 oder 2, wobei n = p = 0 ist, wobei o = 1 ist, wobei m = 0 bis 4 ist, wobei R2 = R3 = -H ist, wobei R2.1 = R2.2 = -H ist, wobei q = 0 und r = 1 ist.

15

9. Verbindung nach Anspruch 1 oder 2, wobei m = p = 0 ist, wobei o = 1 ist, wobei n = 1 bis 4 ist, wobei R2 = R3 = -H ist, wobei R2.1 = R2.2 = -H ist, wobei q = 0 und r = 1 ist.

25

10. Verbindung nach einem der Ansprüche 4 bis 9, wobei ein R2 durch -Am ersetzt ist.

30

11. Verwendung einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 10 zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung einer oder mehrerer Erkrankungen aus der Gruppe bestehend aus "Krebs, chronische Entzündungen, Asthma, Arthritis, Osteoarthritis, chronische Polyarthritis, rheumatische

Arthritis, Inflammatory bowel disease, degenerative Gelenkerkrankungen, Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises mit Knorpelabbau, Sepsis, Autoimmunerkrankungen, Typ I Diabetes, Hashimoto-Thyreoiditis, Autoimmunthrombozytopenie, Multiple Sklerose, Myasthenia gravis, chronisch entzündliche Darmerkrankungen, Morbus Crohn, Uveitis, Psoriasis, Kollagenosen, Goodpasture-Syndrom, Erkrankungen mit gestörter Leukozyten-Adhäsion, Cachexie, Erkrankungen durch erhöhte TNFalpha Konzentration, Diabetes, Adipositas, bakterielle Infektionen, insbesondere mit resistenten Bakterien".

15 12. Pharmazeutische Zusammensetzung, wobei eine Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 10 mit einem oder mehreren physiologisch verträglichen Hilfstoffen und/oder Trägerstoffen gemischt und galenisch zur lokalen, insbesondere oralen, oder systemischen, insbesondere i.v., Gabe hergerichtet ist.

16 13. Verwendung einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 10 zur in vitro Hemmung von Pyruvatkinase, Asparaginase, Serindehydratasen, Transaminasen, Desaminasen, und/oder Glutaminasen.